

锯缘青蟹个体发育过程中 同工酶谱的比较研究*

王 桂 忠 李 少 菁

(厦门大学海洋系)

在水产养殖中, 饵料的供应是至关重要的。通过跟踪消化和代谢方面的酶活性及其同工酶谱的变化情况, 可以获得比较合理的投饵方案以及了解养殖对象食性的转变情况^[1-4]。锯缘青蟹是我国的主要养殖蟹类之一, 养殖热潮方兴未艾。为了了解青蟹在不同发育期中的食性以及食性的转变情况, 给青蟹养殖业提供科学依据, 我们对青蟹不同发育期的四种酶的同工酶变化情况进行了研究。

一、材料与方 法

取体重分别约为 5g (体长22mm, 体宽31mm), 50g (体长51mm, 体宽72mm)和 500g (体长88mm, 体宽128mm)的青蟹作为早、中、后三个不同发育期的代表。将这些青蟹剖开, 取其肝胰腺。在体重约为50g的个体中, 还增取其大螯肌, 用重蒸水冲洗这些组织, 按 1cm³水加0.1g组织的比例称取上述组织, 置玻璃匀浆器在冰浴上匀浆。匀浆经过离心, 取上清液放在 4℃冰箱保存用于电泳。

同工酶分析系采用聚丙烯酰胺凝胶垂直管式电泳。电泳凝胶系统按袁玉荪等(1986)的方法制备^[5], 电泳样品以酶提取液与0.025%溴酚蓝-50%甘油按4:1混合, 用注射器加在电泳管胶上。加样量为0.1cm³/管。采用北京六一仪器厂生产的DYY-III型垂直电泳槽和该厂生产的DYY-III 2型恒流稳压电泳仪, 在4℃冰箱中电泳。开始时使用电压为240V, 当溴酚蓝指示剂进入分离胶时, 电压增至360V, 电泳约3h。共检测了四种酶的同工酶: 乳酸脱氢酶、酯酶、 α -淀粉酶和醛氧化酶。前三种酶的染色液按吴鹤龄等(1983)^[6]的方法配制。醛氧化酶的染色液按Brewer(1970)^[7]的方法配制。染色后的胶条用重蒸水漂洗, 固定保存于7.5%醋酸-30%乙醇-15%甘油中。用DU-8B Beckman分光光度计描记电泳区带。

本文于1989年7月15日收到, 修改稿于1990年5月10日收到。

* 国家自然科学基金资助项目。

二、结 果

(一) 肝胰腺中的同工酶

在锯缘青蟹各个不同发育阶段的肝胰腺中,所测的四种酶都是多态的。酯酶和醛氧化酶的活力比 α -淀粉酶和乳酸脱氢酶高(图1—4)。

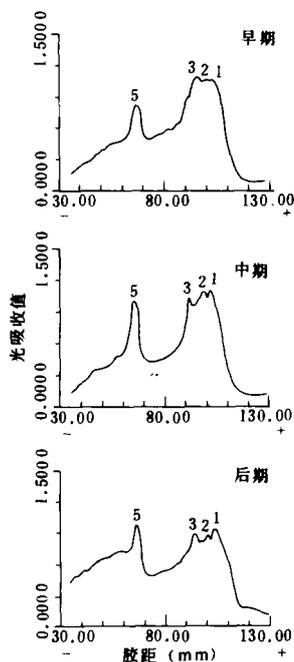


图1 不同发育期锯缘青蟹肝胰腺
中酯酶同工酶电泳扫描图

吸收峰上的数字为同工酶编号,肌肉
样品包含在内一起编号,以下各图同

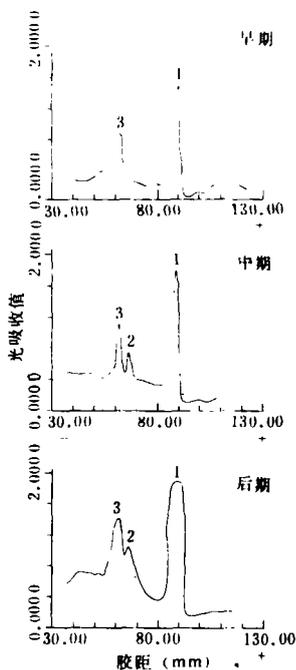


图2 不同发育期锯缘青蟹肝胰腺
中醛氧化酶同工酶电泳扫描图

在不同发育阶段青蟹的肝胰腺中,酯酶的电泳表现型很稳定,都是4个酶带(图1)。但醛氧化酶、乳酸脱氢酶和 α -淀粉酶则有明显的变化。

1. 醛氧化酶(图2),发育早期只有两个酶带,到了中、后期则多出现了一个酶带—2。后期的相对酶活力较早、中期的高。

2. 乳酸脱氢酶(图3),不论是哪一个发育期,肝胰腺中的乳酸脱氢酶的活力都很低。在本实验中共测到9个酶带(包括肌肉的在内)。发育早期只有4个酶带。中期也是4个酶带,但早期中的酶带—7消失,代之的是酶带—4。后期出现7个酶带,即比中期多出现了酶带—1, —2和—6三个同工酶。

3. α -淀粉酶(图4),发育早期和中期的酶谱非常相似。到了后期,迁移率慢的两

个同工酶区的电泳表现型仍与早、中期的相似，但迁移率快的酶带-1消失了。

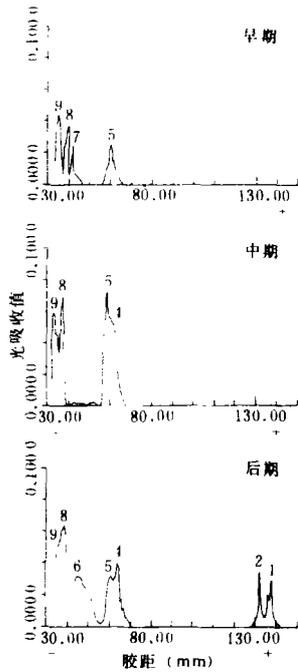


图3 不同发育期锯缘青蟹肝胰腺中乳酸脱氢酶同工酶电泳扫描图

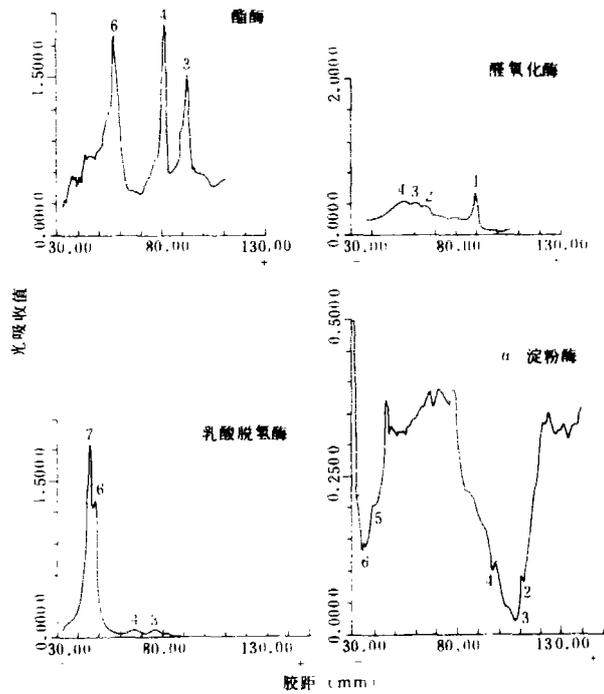


图5 锯缘青蟹肌肉中酯酶、醛氧化酶、乳酸脱氢酶和α-淀粉酶同工酶电泳扫描图

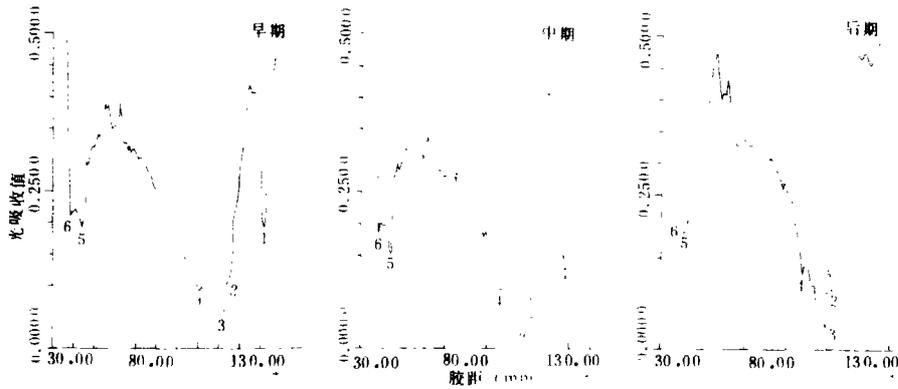


图4 不同发育期锯缘青蟹肝胰腺中α-淀粉酶同工酶电泳扫描图

α-淀粉酶带为负带

(二) 肌肉中的同工酶

我们仅测了发育中期的个体的肌肉同工酶。将这一发育期肌肉中的各个酶的酶谱(图5)与该发育期肝胰腺中相应酶的酶谱(图1—4)进行了比较,发现二者存在着很大的

差别。

肌肉中的酯酶有3个酶带,其中两个酶带(酶带-4和-6)是肝胰腺中所没有的。

肌肉中醛氧化酶的相对活力比肝胰腺中的低,但肌肉比肝胰腺多了1个酶带-4。

乳酸脱氢酶在肌肉中的活力比在肝胰腺中的高得多,主要活力是表现在迁移率较慢的酶带-7和-6上。此外肌肉中的酶谱也与肝胰腺中的酶谱相差很大。

肌肉中 α -淀粉酶的酶谱与发育后期肝胰腺中的酶谱极其相似。但比同一发育期(发育中期)的肝胰腺则少了一个迁移率快的酶带-1。然而,迁移率慢的两个同工酶区的酶谱在二者却没有多大的差别。

三、讨 论

甲壳动物的肝胰腺对食物的消化、代谢与吸收起着很重要的作用^[8]。据报道,甲壳动物储存和利用的有机物质主要是类脂和碳水化合物^[8-10]。这一点在我们的实验中得到了进一步的证实。即在不同发育期的青蟹肝胰腺中都测到了酯酶、醛氧化酶、 α -淀粉酶和乳酸脱氢酶,说明锯缘青蟹也储存和利用类脂和碳水化合物。这是因为酯酶是分解类脂的酶,而其他三种则是糖代谢过程的酶。

实验结果指出,在不同发育期的青蟹肝胰腺中,酯酶的电泳表现型很稳定,但其他三种与糖代谢有关的酶则随着不同的发育期其同工酶谱有明显的变化。这说明锯缘青蟹体内类脂代谢机制相对稳定,而碳水化合物的代谢机制则随着发育期的不同而有所变化。这种变化可能反映不同发育阶段的锯缘青蟹对碳水化合物的需求不同。Morgan II等^[3]在研究了哈氏扇蟹(*Rhithropanopeus harrissi*)个体发育过程中的同工酶变化之后指出,同工酶的变化与短尾类对食物的需求有关。Borowsky(1984)发现饵料中淀粉和糖原含量的变化会改变钩虾属端足类(*Gammarus*)淀粉酶的表现型^[11]。Ogihara(1975)在比较了22种哺乳动物肝脏中的乳酸脱氢酶同工酶谱之后发现,草食性的种类和肉食性种类之间同工酶谱存在着很大差异^[1]。

实验结果还指出,发育中期青蟹肌肉中所测的4种酶的同工酶谱与肝胰腺中相应酶的酶谱有较大的差别,这是组织的特异性所决定的。在其他生物的厌氧间歇肌和肝脏中,乳酸脱氢酶电泳迁移率较慢的同工酶含量较高^[6,12],我们的结果与之基本吻合。在锯缘青蟹的肌肉和肝胰腺中主要含有电泳迁移率较慢的乳酸脱氢酶同工酶,尤其在锯缘青蟹的肌肉中,这种现象表现得更为突出。Ezhilarasi等^[10]指出,锯缘青蟹肝胰腺中的酯酶是羧酸酯酶,它不仅与类脂化合物的水解和释放有关,而且对类脂化合物转移到其他利用部位的过程有关。至于锯缘青蟹肌肉中的酯酶是哪一种酯酶以及它的生理功能是什么,尚未见报道。同样,青蟹肌肉和肝胰腺中 α -淀粉酶和醛氧化酶的电泳表现型不同,其生理差异也有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Guerm, Jean-pierre *et al.*, Effects of diet on esterases, alkaline phosphatase, malate dehydrogenase and phosphoglucomutase activity observed by polyacrylamide gel electrophoresis in *Tisbe holothuriae* (Harpacticoid copepod), *Comp. Biochem. Physiol.*, **73 B** (1982), 4: 761—770.
- [2] Dendinger, J. E., Electrophoretic separation of three dehydrogenases from various tissues of the atlantic blue crab, *Callinectes sapidus*, *Comp. Biochem. Physiol.*, **66 B** (1980), 3: 431—433.
- [3] Morgan, R. P. H. *et al.*, Biochemical changes during larval development of the Xanthid crab *Rhithropanopeus harrisi*, III. Isozyme changes during ontogeny, *Marine Biology*, **48** (1978), 3: 223—226.
- [4] Johnson, G. B., Enzyme polymorphism and metabolism; polymorphism among enzyme loci is related to metabolic function, *Science*, **184** (1974), 4132: 28—37.
- [5] 袁玉芬等, 生物化学实验 (第二版), 高等教育出版社, 1986, 92—96.
- [6] 吴鹤龄等, 遗传学实验方法和技术, 高等教育出版社, 1983, 272—275.
- [7] Brewer, G. S., *An Introduction to Isozyme Techniques*, Academic press, New York, 1970, 62—137.
- [8] Vonk, H. J., Digestion and metabolism, *The Physiology of Crustacea*, Eds., Waterman, T. H., Academic Press, New York and London, 1960, 291—316.
- [9] Nagabhusanam, R. *et al.*, Mobilization of protein, glycogen and lipid during ovarian maturation in marine crab, *Scylla serrata* (Forsk.), *Indian Journal of Marine Science*, **11** (1982), 2: 184—186.
- [10] Ezhilarasi, S. *et al.*, Esterases activity in *Scylla serrata* (Forsk.) during ovarian development, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **83** (1984), 1: 1—12.
- [11] Borowsky, R., Environmental control of amylase phenotype in Amphipods of the genus *Gamma-rus*, *Biol. Bull.*, **167** (1984), 3: 647—657.
- [12] Moss, D. W., *Isoenzymes*, London, New York, Chapman and Hall, 1982, 87—115.